Stickstoff-Retentionsuntersuchungen an wachsenden Ratten mit Hilfe von N-Bilanzen und Körper-N-Analysen

Jürgen Heppa

5349/60

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. Johannes Brüggemann

STICKSTOFF - RETENTIONSUNTERSUCHUNGEN AN WACHSENDEN RATTEN MIT HILFE VON N-BILANZEN UND KÖRPER - N - ANALYSEN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig - Maximilians - Universität
München

von

Jürgen Heppa

aus

München

1959

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. Karl Zipf

Referent: Professor Dr. Dr. Johannes Brüggemann

Tag der Promotion: 28. 7. 1959

"UNI"- Druck München 13 Amalienstraße 85

INHALTSÜBERSICHT

		Seite
A.	Einleitung und Problemstellung	1
B.	Literaturübersicht	3
C.	Eigene Versuche	8
	1. Versuch I	8
	a) Versuchsanlage	8
	1) Käfige	8
	2) Futtergefäße	8
	3) Wasserversorgung	8
	b) Versuchsdauer	9
	c) Versuchstiere	9
	1) Kennzeichnung	9
	2) Futtermischung	9
	d) Kot- und Harngewinnung	9
	e) Verarbeitung von Kot und Harn	10
	f) Bestimmung des NH_3 in der aus dem Käfig austretenden Luft	10
	g) Verarbeitung der Versuchstiere	11
	1) Tötung	11
	2) Verarbeitung	11
	3) Feststellung des N-Gehaltes in den Versuchstieren bei Versuchsbeginn	11
	2. Versuch II	11
	3. Versuch III	12
	4. Versuch IV	12
	5. Versuchsergebnisse	12

Seite

D. Diskussion 13

a) Methodik 13
b) Ergebnisse 14

E. Zusammenfassung 17

F. Literaturverzeichnis 19

Lebenslauf

A.

EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Die in zunehmendem Maße gestiegenen Ansprüche auf dem Gebiet der Tierfütterung und Futterzusammensetzung erfordern zwangsläufig eine stärkere Beachtung der N-haltigen Anteile.

Besondere Bedeutung haben hierbei die Methoden zur biologischen Wertbeurteilung von Futtermittelrohproteinen erlangt. Einige dieser Methoden sollen an dieser Stelle erwähnt werden, weil für sie die nachfolgend geschilderten Probleme von besonderer Bedeutung sind.

Thomas (1) entwickelte als erster eine anschauliche Formel zur Errechnung der biologischen Wertigkeit. Die Grundlage hierfür bildet die Aufstellung einer N-Bilanz nach vorausgegangener 7tägiger, N-freier Fütterungsperiode zur Feststellung der Harn-N-Ausscheidung während des Erhaltungsstoffwechsels. Nach Thomas (l.c.) ist die Biologische Wertigkeit (BW) =

$$\frac{\text{(Futter N - Kot N) - (Harn N - endogen. Harn N)}}{\text{Futter N - Kot N}} \times 100$$

und gibt an, wieviele Teile Körper-N durch 100 Teile Nahrungs-N ersetzt werden können.

Auf den Überlegungen von Thomas (l.c.) aufbauend stellte Mitchell (2) eine Formel auf, die außer den schon in der Formel von Thomas (l.c.) bekannten Begriffen noch den Wert des "Darmverlust-N" zahlenmäßig erfaßt. Die entsprechenden Daten wurden auch hier in 7tägigen, N-freien Fütterungsperioden mit nachfolgender Versuchsdurchführung mit N-haltigem Futter ermittelt. Die entsprechende Formel lautet:

$$BW = \frac{\text{Futter N - (Kot N - Darmverlust N) - (Harn N - endogen. Harn N)}}{\text{Futter N - (Kot N - Darmverlust N)}} \times 100$$

Eine zweite, von Mitchell (l.c.) erstellte Formel befaßt sich mit der wahren Verdaulichkeit. Danach ist "Wahre Verdaulichkeit" (WV) =

$$\frac{\text{Futter N - (Kot N - Darmverlust N)}}{\text{Futter N}} \times 100$$

Nehring (15) vereinfachte die bisher aufgestellten Formeln für die Biologische Wertigkeit und schrieb:

$$BW = \frac{\text{N-Ansatz + endogen. Harn N + Stoffwechsel N}}{\text{resorbierten N}} \times 100$$

Multipliziert man die Formeln für die "Biologische Wertigkeit" und die "Wahre Verdaulichkeit" miteinander, so erhält man die als Physiologischen Nutzwert oder auch Nettowert bezeichnete "Net-Protein-Utilization" (NPU). NPU = BW x WV.

Nach Bender und Miller (3) können die zahlreichen Harn- und Kotanalysen, die sonst zur Bestimmung der Net-Protein-Utilization notwendig waren durch Bestimmung des Körper-N ersetzt werden. Durch Umrechnen wurde folgende neue Formel gefunden:

$$NPU = \frac{Bf - Bk + Jk}{Jf}$$

Bf = Körper N-Zunahme während der Verfütterung einer Proteinkost
Bk = Körper N-Zunahme während der Verfütterung von proteinarmer Kost
Jk = N-Aufnahme mit der proteinarmen Kost
Jf = N-Aufnahme mit der Proteinkost.

Es entfällt somit die Erfassung von Harn und Kot und die zur Bestimmung des endogenen Harn-N und des Darmverlust-N notwendige Fütterungs-Vorperiode.

Eine weitere Methode zur Bewertung verschiedener Proteine entwickelten Osborne, Mendel und Ferry (4) mit dem sog. Wachstumstest. Hierbei wird die Größe des Zuwachses an Körpergewicht, die durch den Verzehr von 1 g Eiweiß hervorgerufen wird als Maßstab ("Protein Efficiency Ratio", PER) verwendet. Letztgenannte Methode ist jedoch zu ungenau, da die Gewichtszunahme nicht nur durch Stickstoff, sondern auch noch durch verschiedene andere Faktoren (Fett, Wasser, Knochen etc.) bewirkt wird, und hat deshalb keine größere praktische Bedeutung erlangt. Wie aus den genannten Formeln ersichtlich, ist die Grundlage zur biologischen Bewertung des Nahrungsstickstoffs die genaue Aufstellung einer N-Bilanz im Tierversuch, die aus N-Einnahmen - N-Ausgaben resultiert. Aus der Differenz der beiden Größen errechnet sich der im Körper verbliebene Stickstoff. Zur Bestimmung der Net-Protein-Utilization und um zu beweisen, daß der errechnete retinierte Stickstoff auch tatsächlich im Tier zum Ansatz gekommen ist, muß eine genaue Tierkörperanalyse durchgeführt werden.

Hierbei geht man so vor, daß zu Beginn eines Versuches Vergleichstiere getötet und ihr Stickstoffgehalt bestimmt wird, um den Ausgangs-N-Gehalt der Versuchstiere pro Gewichtseinheit durch Analogieschluß zu ermitteln, daß ferner nach dem Versuchsabschluß sämtliche Tiere getötet und die in

ihnen enthaltenen N-Mengen analytisch bestimmt werden.

Den N-Ansatz im Tier erhält man sodann durch Subtrahieren des zu Beginn des Versuches vorhandenen Stickstoffs von dem zu Ende des Versuchs im Tierkörper gefundenen.

N-Ansatz = Gesamt-Körper-N - Anfangs N-Gehalt.

Mit vorliegender Arbeit sollte festgestellt werden, ob mit beiden Arten gleiche Werte bei der Bestimmung des N-Ansatzes zu erhalten sind, ob Abweichungen der Werte dieser zwei Bestimmungsmethoden auftreten können, und worin die Ursache für diese eventuell auftretende Abweichung zu suchen ist.

B.

LITERATURÜBERSICHT

Es soll an dieser Stelle eine Übersicht über diejenigen Arbeiten gegeben werden, die sich mit den Diskrepanzen befaßt haben, die bei Ermittlung der N-Retention nach der N-Bilanz und der Körper-N-Analyse auftreten.

Pfeiffer und Mitarbeiter (5) gingen bei ihren Bilanzversuchen an Hammeln, und Weniger (6) an Schweinen so vor, daß sie Kontrolltiere bei Versuchsbeginn töteten und in zwei gleiche Hälften teilten. Aus einer dieser Hälften wurde dann der N-Gehalt bestimmt und mit dem der anderen gleichgesetzt. Ebenso verfuhr man mit den Versuchstieren zu Ende eines Versuches. Darauf wurde die N-Bilanz (N-Einnahmen - N-Ausscheidungen) dem durch die Körper-N-Analyse gefundenen N-Zuwachs gegenübergestellt.

Eine Analyse des gesamten Tieres erscheint jedoch zweckmäßiger, so daß kleinere Tiere für derartige Versuche besser geeignet sind. Von Lombroso und Di Frisko (7), sowie von Dohna-Schlobitten (8) wurden daher zum ersten Mal Ratten als Versuchstiere verwendet. Die Versuche von Lombroso und Di Frisko (l.c.) ergaben ungeklärte Differenzen zwischen der N-Menge, die nach der Aufstellung der Bilanz im Tierkörper hätte verbleiben müssen und dem durch die Körper-N-Analyse tatsächlich gefundenen N-Zuwachs, während sich bei den Versuchen von Dohna-Schlobitten (l.c.) keine gesicherten Differenzen zwischen N-Bilanz und N-Ansatz im Tier ergaben.

Rauf (9) machte 130tägige Bilanzversuche mit Hühnern und stellte fest, daß der mit Hilfe der Bilanzmethode festgestellte retinierte Stickstoff um 3,24 - 119,83 g N höher lag als bei der Körper-N-Analyse. Er schloß daraus, daß die Tiere Stickstoff auf unbekanntem Wege ausgeschieden haben müßten.

Schoel (10) ermittelte in zwei Versuchsreihen, die jeweils sechs Gruppen zu 12, bzw. 6 Tieren umfaßten, Phosphor- und Stickstoffbilanzen an New-Hampshire-Hähnchen vom 1.-80. Lebenstag. Die Ausscheidungsprodukte wurden bei 105° C im Trockenschrank getrocknet. Dabei wurde kein Entweichen von Ammoniak festgestellt. Die N-Bestimmung erfolgte aus aliquoten Teilen des durch Zerreiben homogenisierten Materials. Nach 80tägiger Versuchsdauer wurden alle Versuchstiere getötet und gruppenweise nach Trocknung und Pulverisierung auf ihren N-Gehalt untersucht. Die ermittelten N-Ansatzwerte wurden den durch die N-Bilanz gegebenen gegenübergestellt. Der im Tierkörper analytisch bestimmte N-Ansatz lag um 11,0-25,5 % tiefer als der nach der N-Bilanz erwartete.

Schoel (l.c.) vertritt die Ansicht, daß diese Diskrepanzen auf ein Entweichen von Stickstoff aus dem Tierkörper auf unbekanntem Wege zurückzuführen sind. Die zugleich angestellten Phosphor-Bilanzversuche zeigten, daß die durch die Bilanz errechnete Phosphormenge nur um 0,6-3 % von der durch die Körper-Phosphor-Analyse gegebenen Phosphor-Zuwachsmenge abwich. Dadurch war bewiesen, daß die Diskrepanzen bei den N-Bilanzversuchen von Schoel (l.c.) nicht auf Versuchsfehler zurückzuführen sind, denn dann hätten die Unterschiede bei gleicher Versuchs-Methodik auch in annähernd gleicher Höhe bei den Phosphor-Bilanzversuchen auftreten müssen.

Kinzel (11) stellte im gleichen Jahr (1955) Bilanzversuche mit Hühnern und Enten an. Die Versuchsdauer betrug 60, bzw. 160 Tage. Kinzel (l.c.) verfuhr bei der Verarbeitung der Ausscheidungen nach der schon bei Schoel (l.c.) beschriebenen Methode. Dabei ermittelte er N-Verluste von 0,52-2,16 % des N-Gehaltes des Frischkots. Zu Ende des Versuches wurde jeweils das erste Tier einer Versuchsgruppe im Ganzen in konz. H_2SO_4 aufgeschlossen und aus ihm der N-Gehalt ermittelt. Die übrigen zu analysierenden Tierkörper wurden vor der Trocknung ca. 10 Minuten lang in angesäuertem Wasser gekocht. Das Kochwasser wurde anschließend in Kjeldahl-Kolben übergeführt und aus ihm der Stickstoffgehalt bestimmt. Die N-Bestimmung in den Tierkörpern erfolgte aus aliquoten Teilen des getrockneten, pulverisierten Materials. Die auftretenden N-Verluste beim Trocknen der Tiere waren so unbedeutend gegenüber den in konz. Schwefelsäure aufgeschlossenen Tieren,

daß sie vernachlässigt werden konnten. In keinem der Versuche konnte die N-Bilanz durch den N-Ansatz im Tier bestätigt werden; bei den Hühnerversuchen lag die durch die Bilanz errechnete Stickstoffmenge um 10, 7-18, 0 % über dem durch die Körper-N-Analyse ermittelten N-Zuwachs.

Rössner (12) arbeitete am hiesigen Institut mit Ratten. Harn und Kot wurden während der Versuchsdauer getrennt aufgefangen. Die N-Bestimmung aus dem Harn erfolgte aus aliquoten Teilen eines in ml bekannten Harn-H_2SO_4 (5%ig)-Gemisches. Der Kot wurde getrocknet, im Mörser fein zerrieben, und der N-Gehalt aus kleinen Einwaagen bestimmt und auf die Gesamtmenge umgerechnet. Die toten Tiere wurden nach Trocknung und Zerkleinerung im Mörser in einer Kolloidkugelmühle gemahlen. Aus der erhaltenen homogenen Pulvermenge konnte die N-Bestimmung ebenfalls wieder aus aliquoten Teilen durchgeführt werden. Der ermittelte N-Ansatz der Tiere betrug im Durchschnitt nur 59, 14 % des in der Bilanz errechneten Stickstoffwertes. Es bestand somit eine Diskrepanz von 40, 86 % !

Fölster (13) führte langfristige N-Bilanzversuche und Analysen an 6 Hennen durch. Die N-Bestimmung aus den Exkrementen wurde nach Trocknung vorgenommen. Nach Abschluß des Versuches und Tötung der Tiere wurden 5 der 6 Hennen gekocht, danach Fleisch und Knochen voneinander getrennt, mit verdünnter HCl übersprüht und im Trockenschrank getrocknet. Die Extraktion des Fettes aus Fleisch und Knochen geschah mittels Petroläther. Die N-Bestimmung erfolgte aus den im Starmix homogenisierten Substanzen. Es ergaben sich zu Ende des Versuches folgende Werte, wobei der N-Ansatz im Tier in Prozent der durch die N-Bilanz errechneten N-Menge ausgedrückt ist: 81, 16 %, 86, 80 %, 76, 08 %, 69, 08 %, 82, 13 %, 76, 58 %. Die durch N-Bilanz errechnete N-Menge liegt also um 13, 20-30, 92 % über dem durch die Körper-N-Analyse ermittelten N-Zuwachs.

Fölster (l.c.) bezieht jedoch nicht den durch Körper-N-Analyse bestimmten N-Ansatz auf den durch die Bilanz (Futter-N - Ausscheidungs-N) ermittelten Wert, sondern bezieht den Fehlbetrag des N-Ansatzes gegenüber der N-Bilanz auf den insgesamt analysierten N-Wert (N-Aufnahme, N-Ausscheidung, N-Ansatz). Er erhält damit Fehlbeträge in Prozent, die zwischen 0, 93 und 1, 88 schwanken. Fölster (l.c.) führt diese "N-Verluste" auf kleinste Fehler bei der Verarbeitung aller erfaßten N-haltigen Substanzen zurück und erachtet sie als relativ niedrig.

Ähnlich hoch wie bei Rössner (l.c.) lagen die "N-Verluste" als Ergebnisse von Bilanzversuchen, die Drepper (14) 1956 mit Albinoratten unternahm:

"Führt man die Bestimmung der N-Retention mit Hilfe der Körper-N-Analyse durch (Kjeldahl-Analyse des Körpers von gleichschweren und gleichaltrigen Tieren, von denen eine erste Gruppe vor, eine zweite nach einer Fütterungsperiode untersucht wurde), so ergibt sich ein Durchschnittswert, der mit etwa 40 % unter demjenigen liegt, der auf die bisher übliche Weise durch Errechnung aus der N-Bilanz-Methode (aufgenommener N - ausgeschiedener N während der Fütterungsperiode, beides durch Kjeldahl-Analyse ermittelt) erhalten wird."

In die gleiche Richtung weisen auch Ergebnisse von Versuchen, die Nehring (15) u. Mitarbeiter mit jungen, wachsenden Ratten und später auch mit Schweinen anstellten.

Die Ratten wurden mit einem Durchschnittsgewicht von 60-70 g, Alter ca. 35 Tage, in den Versuch genommen. Jeweils zu Beginn wurden zumeist 6 Tiere getötet und analysiert, um den durchschnittlichen Anfangs-N-Gehalt zu ermitteln. Die Versuche erstreckten sich über einen Zeitraum von 8-12 Wochen. Die Tiere erreichten bis dahin ein Gewicht von ca. 160 g. Die Verarbeitung von Kot und Harn erfolgte anfangs täglich, später, als gesichert war, daß keine Unterschiede auftraten, in größeren Abständen. Der Kot wurde zum Teil direkt nach der Kjeldahlmethode zum Aufschluß gebracht, oder aber, nach Besprühen mit verdünnter H_2SO_4, im Vakuum getrocknet. Die N-Bestimmung erfolgte aus aliquoten Teilen des zu feinem Pulver zerriebenen Kots. Der Harn wurde angesäuert, und die N-Bestimmung aus aliquoten Teilen vorgenommen.

Die Körper kleinerer Tiere wurden im Ganzen mit konz. H_2SO_4 verascht und der N-Bestimmung nach Kjeldahl zugeführt. Größere Tiere wurden nach folgender Methode verarbeitet: Die Tiere wurden nach der Tötung eingefroren und zerkleinert. Wasser und Fett wurden durch Aceton entzogen. Nach Trocknen und Zermahlen des extrahierten Materials wurde daraus die N-Bestimmung durchgeführt, desgleichen aus aliquoten Teilen des Acetonauszuges. Im Acetonauszug fanden sich ca. 3-5 % der N-Menge des Tierkörpers. Dieses Verfahren wird von Nehring (l.c.) als das zur Zeit brauchbarste angesehen.

Bei Versuch I (67 Tage) fand Nehring (l.c.) mit Hilfe der Körper-N-Analyse nur 60 % der Körper-N-Retention wieder, die nach der Bilanz im Körper hätte verblieben sein müssen. Zwischen Körper-N-Zuwachs und Bilanz bestand also eine Diskrepanz von 40 %. Bei Versuch II betrug sie 15 %, stieg jedoch bei einer Versuchsverlängerung über 50 Tage hinaus weiter an. Bei diesem Versuch lag erstmals die durch Körper-N-Analyse ermittelte N-Zuwachsmenge um im Höchstfall 1,4 % über der durch die Bilanz errechneten N-Menge. Diese 1,4 % wurden als durch die Versuchstechnik bedingt angesehen, so daß die N-Mengen

der Differenz zwischen N-Aufnahme und N-Ausscheidung als N-Ansatz im Tierkörper praktisch wiedergefunden waren. Bei den weiteren Rattenversuchen traten Diskrepanzen von ca. 33 % auf, und beim 75 Tage dauernden Versuch mit 4 wachsenden Schweinen betrug die Differenz zwischen N-Bilanz und Körper-N-Zuwachs 16 %. Nehring (l.c.) bezieht außerdem die Differenz zwischen der N-Retention nach der Körper-N-Analyse und der nach der N-Bilanz errechneten auf die N-Einnahmen.

Wolpert (16) konnte in Stoffwechselversuchen über 7 Tage ebenfalls die hohen Unterschiede zwischen den durch die Bilanz errechneten N-Retentionen und den durch Körper-N-Analysen ermittelten N-Zuwachsen bestätigen. Die N-Bestimmung aus den Exkrementen erfolgte nach der bei Rössner (l.c.) beschriebenen Methode. Die getöteten Ratten wurden gewogen, geöffnet und so lange getrocknet, bis keine Gewichtsveränderung mehr auftrat. Danach erfolgte die N-Bestimmung aus dem zerkleinerten und in einer Kugelmühle gemahlenen Material. Die Prüfung des N-Ansatzes mit Hilfe von Körper-N-Analysen ergab in allen Fällen einen um etwa 40 % niedrigeren Wert als durch die N-Bilanz.

In neuerer Zeit von Hansel (17) am hiesigen Institut unternommene Versuche zur Klärung des Problems der auftretenden Diskrepanzen zwischen den N-Retention nach der N-Bilanz und der N-Retention nach Körper-N-Analyse ergeben ein etwas anderes Bild: Die Werte des als "Wahre N-Retention" bezeichneten N-Ansatzes (Körper-N-Analyse) liegen gegenüber der "Scheinbaren Retention" (N-Bilanz), um ca. 4 % höher. Bei den Ausscheidungen ist jedoch der in der Käfigluft enthaltene Ammoniak berücksichtigt, der bei den üblichen Versuchsanstellungen nicht erfaßt wurde. Würde dieser Ammoniak keine Berücksichtigung erfahren, so lägen auch bei Hansel (l.c.) die Werte bis ca. 25 % im negativen Bereich. Im Ganzen gesehen sind auch in den Versuchen von Hansel (l.c.) die Ergebnisse streuend, die Werte der "Wahren N-Retention" liegen teils über, teils unter denen der "scheinbaren", doch im Durchschnitt können bei Annahme einer etwas höheren Fehlergrenze als sie von Nehring (l.c.) angegeben wurde, die "Wahre" und die "Scheinbare Retention" als übereinstimmend bezeichnet werden.

Um nun letztgenannte Ergebnisse zu überprüfen und eine verbesserte Methodik bei der Verarbeitung von Exkrementen und Tierkörpern zu finden, wurden von uns folgende Versuche unternommen:

C.

EIGENE VERSUCHE

Versuch I

Versuchsanlage:

Als Versuchskäfige wurden jeweils 2-Liter-Original-Weckgläser verwendet, deren Deckel zwei Bohrungen von je 1, 3 cm Durchmesser aufwiesen. In die Käfige war ein Drahtrost so eingepaßt, daß er an den Wandungen anlag und sich 2 cm über dem Boden befand.

Als Futtergefäße dienten runde Plexiglas-Dosen von ca. 7, 5 cm Durchmesser, deren aufschraubbare Deckel mit einem kreisrunden Loch (r=1, 5 cm) zentral versehen waren. Die Befestigung dieser Gefäße auf dem Sitzrost erfolgte mittels zweier Drahtstücke, die vom Rost ausgingen und mit kurzen Enden über den Rand des Gefäßes gebogen wurden.

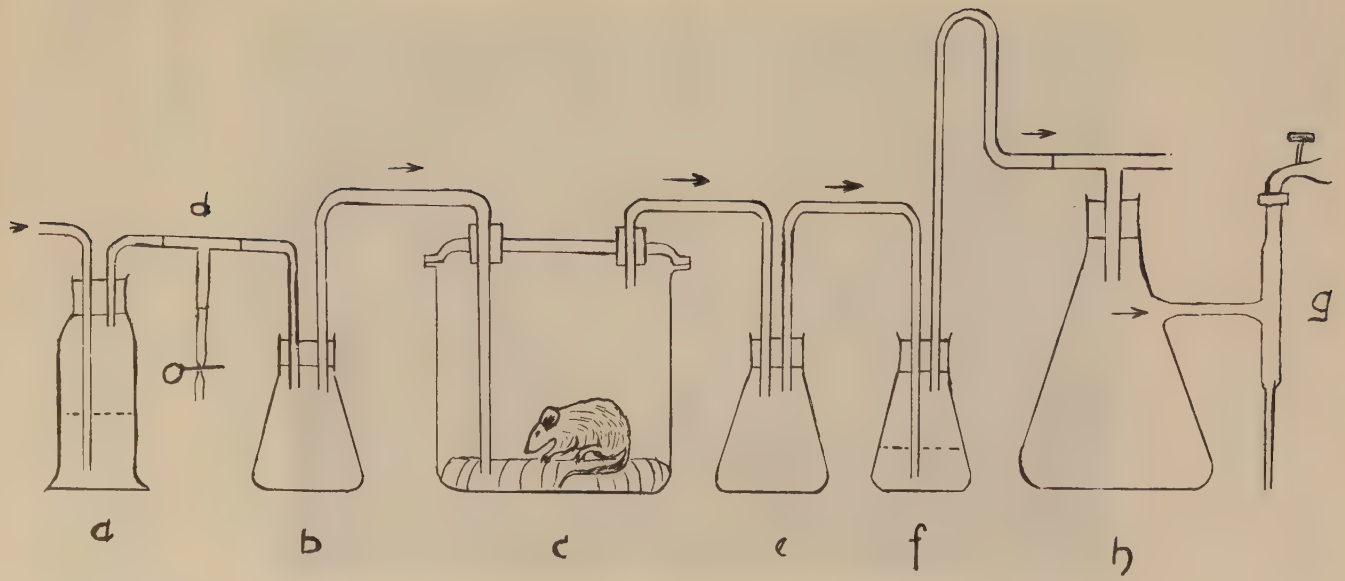
Zur Aufnahme von Trinkwasser dienten in jedem Käfig zwei kurze Trinkblasen, die durch ein sägebockähnliches Drahtgestell in ca. 3/4 der Käfighöhe gehalten wurden.

Der luftdichte Verschluß des Käfigs zwischen Glas und Deckel wurde durch einen Gummiring (Weckring) erreicht. Durch eine Stahlklammer, die in gespanntem Zustand auf den Deckel des Käfigs drückte und gleichzeitig unter den überstehenden äußeren Rand desselben faßte, wurde eine feste Auflage erzielt.

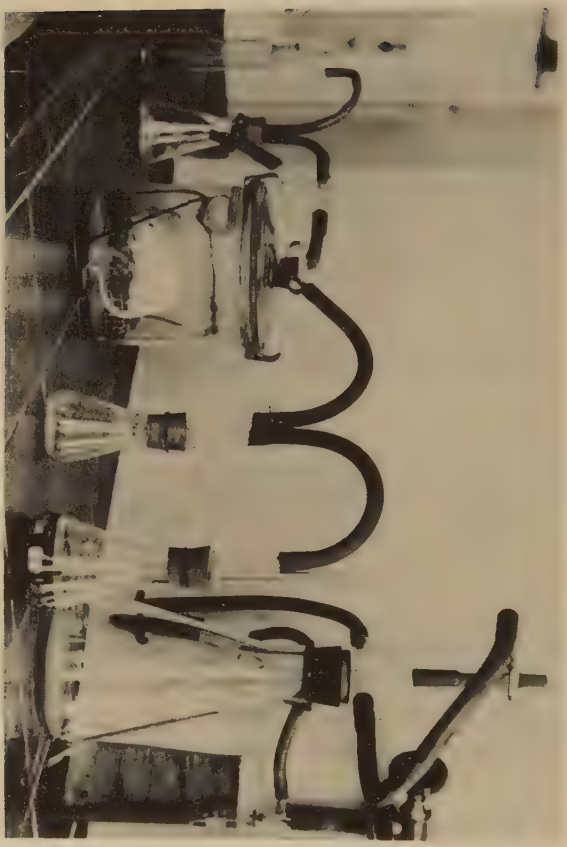
Die Atemluft gelangte über eine Waschflasche (a), die ungefähr zur Hälfte mit konz. H_2SO_4 gefüllt war, durch eine Flüssigkeitsfalle (b) zum Versuchskäfig (c). Das Ende des Verbindungsschlauches war über ein kniefömig gebogenes Glasrohrende gezogen, das durch einen Gummistopfen bis in Höhe des Sitzrostes in den Käfig lief. Der Gummistopfen steckte fest in einer der Deckelbohrungen.

Zwischen Waschflasche und Käfig war in den Gummischlauch ein gläsernes T-Stück eingeschaltet (d), dessen freies drittes Ende einen 5 cm langen Gummischlauch trug, der durch eine Schlauchklemme verschlossen werden konnte.

Die aus dem Käfig austretende Luft gelangte durch die zweite Deckelöffnung, die ebenfalls mit einem Gummistopfen, aber kurzem kniefömig gebogenem Glasstück, dessen eines Ende nur 1 cm in den Käfig reichte, ver-



Versuchsanlage



Versuchsanlage

sehen war, in eine zweite Flüssigkeitsfalle (e). Von hier wurde die aus dem Käfig austretende Luft durch eine Vorlage, die 100 ml n/4 H_2SO_4 enthielt (f) geleitet. Die Luftdurchleitung durch das gesamte beschriebene System erfolgte mittels einer Wasserstrahlpumpe (g) über eine Saugflasche (h).

Die erste, mit konz. H_2SO_4 gefüllte Waschflasche (a) diente dazu, evtl. in der eintretenden Luft vorhandenes NH_3 zu binden. Die dem Käfig vorgeschaltete Flüssigkeitsfalle (b) sollte ein eventuelles Eindringen von Tröpfchen aus der konz. H_2SO_4 enthaltenden Waschflasche (a) in den Käfig vermeiden.

Die dem Käfig nachgeschaltete Flüssigkeitsfalle (e) diente zum Auffangen eventuellen Futterstaubes, um eine Verunreinigung der nachgeschalteten n/4 H_2SO_4 (f) zu vermeiden.

In der Vorlage mit n/4 H_2SO_4 (f) wurde das in der austretenden Käfigluft vorhandene NH_3 als $(NH_4)_2SO_4$ gebunden. Das im Käfig entstandene Ammoniak konnte somit titrimetrisch erfaßt werden.

Versuchsdauer: 14 Tage.

Versuchstiere:

Als Versuchstiere wurden Albinoratten in jugendlichem Alter aus der Zucht des Instituts für Physiologie und Ernährung der Tiere verwandt.

Die Kennzeichnung erfolgte durch Hauptner-Ohrmarken.
Die Tiere wurden nach 15stündiger Nüchterung gewogen und einzeln in einen Käfig verbracht. Das Futter bekamen die Tiere je nach Bedarfsmenge täglich zugewogen. Jeden Tag erhielten die Tiere frisches Trinkwasser.

Das Futter, bezeichnet als "Soja-Diät", enthielt folgende Bestandteile:

45	Teile	Weizenschrot
30	"	Mais
3	"	Magermilchpulver
15	"	Sojaschrot
2	"	Luzernegrünmehl
2	"	Mineralstoffmischung DLG IIIa

Kot- und Harngewinnung:

Der Harn und Kot fielen durch den Sitzrost auf den Boden des Käfigs. Täglich wurden zur selben Zeit von dort die Exkremente entnommen und in einer luftdicht verschlossenen Glasflasche aufbewahrt. Der Käfig wurde mit destilliertem

Wasser saubergewaschen. Das Spülwasser kam zu den Exkrementen. Um eine Bindung von NH_3 zu erreichen, wurden die Ausscheidungen in dem Aufbewahrungsgefäß mit 6n H_2SO_4 angesäuert.

Verarbeitung von Kot und Harn:

Nach jeweils 3, bzw. 4 Tagen wurde die angefallene Kot- und Harnmenge von jedem Tier für sich quantitativ in einen 1000 ml Rundkolben übergeführt und nach Zusatz von 6n HCl 15-16 Stunden am Rückfluß gekocht.

Nach beendeter Hydrolyse wurde die weitgehend homogene Flüssigkeit durch Kieselgurfilter in 1000 ml Standzylinder abfiltriert. Das erhaltene rotbraune klare Filtrat wurde nach gründlichem Auswaschen der Filter mit heißem aqua dest. auf ein bestimmtes Volumen mit destilliertem Wasser aufgefüllt, gut durchmischt und davon 5o ml in Kjeldahlkolben abpipettiert (Doppelbestimmungen). Nach Zusatz von Selen-Reaktionsgemisch und ca. 20 ml konz. H_2SO_4 wurde über einen Zeitraum von ca. 2 1/2 Stunden naß verascht. Die Stickstoffbestimmung erfolgte nach Kjeldahl in der Apparatur von Parnass-Wagner mit n/4 H_2SO_4 als Vorlage. Durch Umrechnen des Stickstoffgehalts der beiden aliquoten Mengen auf die Gesamtflüssigkeitsmenge erhält man die gesamte Menge des in dem Kot und Harn von 3-4 Tagen enthaltenen Stickstoffs.

Filterrückstände: Die bis zur Durchführung des beschriebenen Versuchs am Institut vorliegenden Erfahrungen zeigten an, daß der in den Filterrückständen verbleibende Stickstoff weniger als 1 % der Gesamtmenge ausmacht. Die Filterrückstände wurden daher nicht untersucht.

Bestimmung des NH_3 in der aus dem Käfig austretenden Luft:

Zur Überprüfung, ob die Säureneutralisation in der Vorlage (f) (100 ml) ausschließlich durch Ammoniak aus der Käfigluft erfolgte, oder ob andere, nicht N-haltige, basische, gasförmige Verbindungen daran beteiligt waren, wurden nach Auffüllen der Vorlage auf 200 ml mit aqua dest. 2 x 50 ml direkt mit n/4 NaOH titriert, 2 x 50 ml naß verascht und nach Kjeldahl mit Hilfe der Parnass-Wagner-Apparatur auf ihren N-Gehalt analysiert. Es ergab sich, daß kein Unterschied besteht zwischen der direkten Titration und der Bestimmung des N nach Veraschung. Es war somit erwiesen, daß die Säureneutralisation ausschließlich durch NH_3 oder andere N-haltige, flüchtige Verbindungen erfolgt war. Die N-Bestimmung in der Vorlage nach Veraschung wurde daher bei den folgenden Untersuchungen nicht mehr durchgeführt.

Verarbeitung der Versuchstiere:

1) Tötung:
12-15 Stunden vor Ende des Versuchs wurde den Tieren das Futter entzogen. Die Tötung erfolgte dann durch Abreißen der Wirbelsäule kurz hinter dem Kopf sehr rasch, reaktionslos und ohne Blutverlust.

2) Verarbeitung:
Nach genauer Registrierung des Körpergewichts wurde jede Ratte für sich in einem Rundkolben mit ca. 500 ml 6n HCl unter Aufsatz eines Rückflußkühlers 24 Stunden lang hydrolysiert. Die weitere Verarbeitung der Ratten vollzog sich analog der unter Harn- und Kotverarbeitung geschilderten Methode. Die Filterrückstände wurden analog den unter "Filterrückstände" beschriebenen bewertet.

3) Feststellung des N-Gehaltes in den Versuchstieren zu Beginn des Versuches:
Zehn bis zum Versuchsbeginn gleichartig aufgezogene, gleich alte und etwa gleich schwere Ratten wurden zu Anfang der Untersuchungen getötet und auf ihren N-Gehalt untersucht. Es ergab sich, daß 3, 104 % N (bezogen auf das Körpergewicht) in ihnen enthalten waren. Es wurde mit Hilfe dieses Faktors der N-Gehalt in den Versuchstieren aus ihrem Körpergewicht berechnet.

Versuch II

Die Versuchsanordnung war die gleiche wie bei Versuch I, nur wurden die Käfige nicht mehr mit aqua dest. ausgewaschen, sondern mit 6n H_2SO_4 aus einer Spritzflasche. Es wurde nach diesem Auswaschen mit aqua dest. nachgespült, um die Tiere nicht durch verbleibende H_2SO_4 zu gefährden.

Zwischenzeitlich angestellte Untersuchungen auf N in den Filterrückständen nach der Hydrolyse von Harn und Kot ergaben, daß entgegen den bisher vorliegenden Erfahrungen etwa 8 % des insgesamt ausgeschiedenen N in den Rückständen verblieben war. In den weiteren Untersuchungen erschien daher eine Erfassung dieser N-Mengen unbedingt notwendig.

Um N-Doppelbestimmungen aus den Filterrückständen der Hydrolysen vornehmen zu können, wurden jene im Trockenschrank getrocknet, gewogen, in einer Reibschale zu feinem homogenen Pulver zerrieben, davon bestimmte Mengen in Kjeldahlkolben abgewogen und verascht. Die nach Durchgang durch die Parnass-Apparatur ermittelten N-Werte lassen sich auf Grund der veraschten Kotpulvermangen leicht auf die Gesamtmenge (in Gramm) des Filterrückstandes umrechnen.

Versuch III

Die Versuchstiere wurden bei diesem Versuch drei Tage lang vor Beginn mit "Soja-Diät" vorgefüttert. Nach 15stündiger Nüchterung wurden sie in den Versuch genommen. Für jede Ratte stand eine geschlossene Glasflasche mit eingewogenem Futter für die gesamte Versuchsperiode (220 Gramm) bereit, aus der jedem Tier täglich etwa 15 g in die Futterschale des Käfigs gegeben wurden. Die Käfige wurden täglich mit 6n HCl ausgewaschen, das nachfolgend verwendete Spülwasser wurde verworfen.

Die anfallenden Exkremente wurden nicht wie in den beiden vorhergehenden Versuchen portionsweise hydrolysiert, sondern insgesamt in großen Glasflaschen mit Schliffstopfen bis zum Schluß des Versuches gesammelt und dann gemeinsam hydrolysiert.

Die Filterrückstände dieser Hydrolysen wurden mit heißem aqua dest. vom Papier in Kjeldahlkolben hineingespült und mit 60-150 ml konz. H_2SO_4 und Selen-Reaktionsgemisch verascht. Dauer der Veraschung 4-10 Stunden. Nach Abkühlen und Verdünnen mit aqua dest. erfolgten N-Doppelbestimmungen aus aliquoten Teilen.

Die bei der Rattenhydrolyse verbliebenen Filterrückstände wurden zusammen mit dem Filterpapier im Kjeldahlkolben verascht. Zu Beginn der Veraschung trat starkes Schäumen des Kolbeninhaltes auf, das durch sehr vorsichtiges Sieden bei sehr kleiner Flamme vermieden werden konnte. Diese Rückstände verbrauchten beim Veraschen ca. 80-120 ml konz. H_2SO_4. Die N-Bestimmungen erfolgten wiederum in aliquoten Teilen des nach der Veraschung klaren Kolbeninhaltes.

Versuch IV

Die Tiere wurden nach 15stündiger Nüchterung in den Versuch genommen. Das Abzugsrohr der Vorlage (f) zum Auffangen des Käfigluft-NH_3 wurde um 20 cm nach oben verlängert, damit beim Luftdurchperlen durch die n/4 H_2SO_4 keine Flüssigkeit abgesogen werden konnte, diese vielmehr wieder in den Kolben zurücktropfte.

Im übrigen wurden alle Einrichtungen des Versuches III beibehalten.

Versuchsergebnisse siehe folgende Tabelle

Versuch I:

Ratte Nr.	Anfangs-Gewicht	Gewicht nach 14 Tagen	Gewichts-zunahme	N-Gehalt zu Beginn (3,1o4 % N)	N-Gehalt nach 14 Tagen (analysiert)	N-Zuwachs Faktor 3,1o4	N-Aufnahme in 14 Tagen	N-Ausscheidung in 14 Tagen (Exkremente)	Davon im Filterrück-stand analy-sierter N	N-Ausscheidung als NH_3 in 14 Tg. (Käfigluft)	in % der Gesamtaus-scheidung	Gesamt-N-Ausscheidung	(N-Aufnahme) - (Gesamt-N-Ausscheidung) = Bilanz	N-Zuwachs nach der Körper-N-Analyse in % des N-Zuwachses nach der N-Bilanz-Methode (Faktor 3,1o4
	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg		mg	mg	
1	76,o	111,o	35,o	2359,o4	3263,21	9o4,17	3729,6o	2476,66		1o7,38	3,9	2584,o4	1145,56	78,9o
2	54,o	1o7,o	53,o	1676,16	2832,95	1156,79	4286,45	254o,65		195,o9	6,8	2735,74	155o,71	74,59
3	43,5	87,o	43,5	1350,24	2517,37	1167,13	369o,75	2o62,48		227,o8	9,5	2289,56	14o1,19	83,29
4	3o,o	76,o	46,o	931,2o	1926,5o	995,3o	4o14,5o	2529,67		152,95	5,4	2682,62	1331,88	74,72
5	56,o	116,o	6o,o	1738,24	3347,15	16o8,91	4662,oo	2556,28		317,73	1o,5	2874,o1	1787,99	89,98
ø			47,5			1166,46	4o76,66	2433,15		2oo,o5	7,22	2633,19	1443,47	8o,3o
Versuch II:														
6	47,o	94,o	47,o	1458,88	28o1,21	1342,33	4393,97	2723,4o	234,35	21o,79	7,2	2934,19	1459,78	91,94
7	47,o	99,3	52,3	1458,88	2949,56	149o,68	4393,97	2558,2o	221,29	95,68	3,6	2653,88	174o,o9	85,65
8	53,o	1o3,5	5o,5	1645,12	3o28,48	1383,36	4393,97	27o4,68	233,94	1o3,18	3,7	28o7,36	1586,11	87,2o
9	46,o	82,5	36,5	1427,84	246o,o7	1o32,2o	3335,73	2o64,28	159,14	2o7,93	9,1	2272,21	1o63,52	97,o3
1o	43,5	92,o	48,5	135o,24	2643,64	1293,4o	361o,64	2135,28	167,1o	96,39	4,3	2231,67	1378,97	93,78
ø			46,96			13o8,39	4o25,66	2437,17	2o3,16	142,79	5,58	2579,96	1445,69	91,12
Versuch III:														
11	38,5	71,42	32,92	1195,o4	226o,48	1o65,44	3392,41	21o1,6o	189,71	181,61	8,o	2283,21	11o9,2o	96,o4
12	43,o	92,36	49,36	1334,72	2586,67	1251,95	4374,62	31oo,88	39o,4o	114,15	3,5	3215,o3	1159,59	1o7,94
13	46,o	8o,72	34,72	1427,84	2461,32	1o33,48	3699,2o	4718,98	229,57	9o,91	3,2	28o9,89	889,3o	116,18
14	58,9	1o3,77	44,87	1828,26	3219,75	1391,49	4121,81	2524,o2	187,59	249,22	9,o	2773,24	1348,57	1o3,16
15	51,7	112,44	6o,74	16o4,77	3414,84	181o,o7	4641,18	2785,6o	2o6,47	161,9o	5,5	2947,5o	1693,68	1o6,85
ø			44,52			131o,49	4o45,84	2646,22	24o,75	159,56	5,84	28o5,77	124o,o7	1o6,o3
Versuch IV:														
16	46,52	73,o2	26,5o	1443,98	2266,13	822,15	3171,68	232o,61	197,75	66,8o	2,8	2387,41	784,27	1o4,83
17	45,85	73,o3	27,18	1423,18	2163,29	74o,11	3132,22	2296,57	19o,87	1o6,63	4,4	24o3,2o	729,o2	1o1,52
18	48,31	8o,46	32,15	1499,54	247o,o3	97o,49	354o,58	2657,18	282,o8	44,15	1,6	27o1,33	839,25	115,63
19	48,2o	78,59	3o,39	1496,13	2287,81	791,68	38o5,36	2938,39	28o,14	133,56	4,3	3o71,95	733,41	1o7,94
2o	62,21	87,99	25,78	1931,oo	2584,97	653,97	3745,o2	2921,77	23o,27	91,49	3,o	3o13,26	731,76	89,36
21	53,31	86,37	33,o6	1654,74	2482,16	827,42	3628,93	2671,69	272,44	83,23	3,o	2754,92	874,o1	94,67
22	54,67	99,35	44,68	1696,96	29o2,92	12o5,96	435o,94	2982,6o	314,72	161,o7	5,1	3143,67	12o7,27	99,98
ø			31,39			858,83	3624,96	2684,12	252,61	98,13	3,46	2782,25	842,71	1o1,99

D.

DISKUSSION

a) Methodik

Becker (18) und Harnisch (18) äußerten die Ansicht, daß die in der Literatur beschriebenen Diskrepanzen zwischen der durch N-Bilanz errechneten und dem durch Körper-N-Analyse gefundenen N-Ansatz auf einer Kumulation von an sich kleinen Fehlern bei längerdauernden Versuchen beruhen dürften. Auch Nehring (l.c.) machte die Beobachtung, daß diese Diskrepanzen bei längerer Versuchsdauer weiter in den negativen Bereich wuchsen. Bei den vorstehend beschriebenen Untersuchungen betrug die Versuchsdauer jeweils 14 Tage. Die auf den Seiten 16-18 beschriebene Versuchsanlage wurde von uns so gewählt, daß alle Ausscheidungen der Versuchstiere (flüssig, fest, gasförmig) quantitativ erfaßt werden konnten. Nach den in der Literatur als "N-Verlust" beschriebenen Diskrepanzen zwischen der N-Retention nach der Bilanzmethode und dem durch Körper-N-Analyse ermittelten N-Ansatz mußten folgende Fragen geklärt werden:

1) Sind durch die bisher angewandten Methoden bei der Verarbeitung von Futter, Harn, Kot und Tierkörpern alle für derartige vergleichende Versuche wesentlichen N-haltigen Produkte erfaßt worden, oder treten N-Verluste durch Bildung flüchtiger N-Verbindungen als Folge von Zersetzung von Harn und Kot auf?

2) Scheiden die Tiere wesentliche Mengen von mit der Nahrung aufgenommenem Stickstoff auf anderen, als bisher bekannten Wegen aus,
   a) in der Ausatmungsluft, b) in den Darmgasen?

Die zweite Frage konnte von uns nicht hinsichtlich Ausatmungsluft und Darmgase getrennt untersucht werden, da durch den Bau der Käfige alle gasförmigen Ausscheidungen gemeinsam aufgefangen wurden. Wenn auch die vom Luftstrom aus dem Käfigsystem in die Vorlage (f) übertretende N-Menge zum Teil auf Entweichen von Ammoniak aus dem Käfig (Exkremente) zurückzuführen ist, so werden doch beide Anteile, Ammoniak aus dem Tierkörper und Ammoniak aus den Exkrementen, als Teil der Gesamtausscheidung erfaßt. Falls diese an die Käfigluft abgegebenen N-Mengen nicht berücksichtigt werden, so können sie, wie Hansel (l.c.) durch seine Versuche bewies, einen erheblichen Anteil an auftretenden Unterschieden zwischen "Wahrer" und "Scheinbarer Retention" darstellen.

Die Methode, Harn und Kot in angesäuerten Medien über längere Zeitdauer aufzubewahren, wurde auch von uns angewandt, nicht aber die der Kottrocknung. Statt dessen wird von uns die 24stündige Hydrolyse von Harn und Kot als die sicherste Art, N-Verluste zu verhüten, angesehen. Selbst die in den Filterrückständen bei diesem Verfahren verbleibenden N-Mengen können durch die bei Versuch III beschriebene Methode restlos erfaßt werden. Die bisher beschriebenen verschiedenen Verfahren zur Verarbeitung der Körper von Versuchstieren schließen unserer Ansicht nach die Möglichkeit für kleinste N-Verluste nicht aus. Die von uns angewandte Methode, das Versuchstier zunächst im ganzen zu hydrolysieren, garantiert sauberes und schnelles Arbeiten ohne jeden Verlust an stickstoffhaltigen Verbindungen. Die bei der Hydrolyse der Ratten auftretenden Filterrückstände wurden von uns mitsamt dem Papier verascht, weil sich zum Teil der Rückstand infolge anhaftenden Fettes auch mit heißem Wasser nur schwer abspülen läßt, und weil das verwandte Filterpapier nach unseren Erfahrungen als stickstofffrei angesehen werden konnte.

Unsere Versuchstiere wurden während der Versuchsdauer aus einer genügend großen, vorher analytisch genau eingewogenen Futtermenge je nach ihrem Tagesbedarf gefüttert. Damit kamen tägliche Einwaagen, und damit verbunden, kleinste Fehlerquellen,zum Wegfall.

Nach Untersuchungen von Nehring (l.c.) und Drepper (l.c.) kann für die beschriebene Untersuchung die Kjeldahl-Methode zur N-Bestimmung mit genügender Genauigkeit angewendet werden. Vergleichende Versuche der genannten Autoren haben gezeigt, daß die N-Bestimmungen in den vorliegenden Materialien nach Dumas praktisch zu gleichen Ergebnissen führten wie nach Kjeldahl. Becker und Harnisch (l.c.) haben demgegenüber festgestellt, daß im Rattenkörper und Rattenkot mit Hilfe der Methode nach Kjeldahl nur etwa 97 % des Stickstoffs gefunden wird wie nach dem Dumas-Verfahren. Ein Auswaschen der Käfige mit 6n H_2SO_4 oder 6n HCl brachte gegenüber dem Säubern mit Aqua dest., wie es im Versuch I gehandhabt wurde, nicht nur den Vorteil der vollständigen mechanischen Reinigung von allen anhaftenden Ausscheidungen mit sich, sondern garantiert auch sofortige Bindung aller vorhandenen ammoniakhaltigen Produkte.

b) Ergebnisse

Der durchschnittliche N-Gehalt im Tierkörper, den wir mit 3, 104 % ermittelten, nähert sich am ehesten dem von Landis (19) mit 2, 94 % angegebenen Wert. Die von allen anderen Autoren (Wolpert 2, 42 %, Drepper 2, 58 %,

Rössner 2, 68 %, Nehring 2, 81 %) bekanntgegebenen prozentualen Anteile des Stickstoffs am Körpergewicht liegen relativ weit unter dem von uns gefundenen Durchschnittswert. Dies mag zum Teil auf ein mangelhaftes Erfassen der N-Mengen während der Verarbeitung der Rattenkörper nach den üblichen Methoden, z. B. Trocknung, zurückzuführen sein. Zum anderen kann durch Verwendung älterer Versuchstiere, auf Grund des höheren Gewichts, das dann aber zumeist nicht auf größeren Anteilen an N-haltigen Körpersubstanzen beruht, sondern zum Großteil auf Fett, ein geringerer Prozentsatz an Stickstoff gefunden werden. Es sei hinzugefügt, daß bei unseren Versuchstieren Fettbildung nur vereinzelt, und dann in sehr beschränktem Rahmen auftrat, da es sich um junge, noch wachsende Tiere im Alter von ca. 4-6 Wochen handelte.

Hohe Differenzen zwischen der durch die Bilanz errechneten N-Retention und dem durch Körper-N-Analyse gefundenen N-Zuwachs, wie sie von Schoel mit 11-25 %, Kinzel mit 10, 7-18 %, Rössner mit 40, 86 %, Fölster mit 13, 20-30, 92 %, Drepper mit 40 %, Nehring mit 16-40 % und Wolpert mit 40 % angegeben wurden, traten nur beim ersten der drei, von uns als Vorversuche gewerteten Versuch mit 19, 7 % auf. Dieser Unterschied von 19, 7 % kann zum Teil dadurch zustande gekommen sein, daß die in den Kotfilterrückständen enthaltenen N-Mengen auf Grund der seinerzeit vorliegenden Erfahrungen nicht berücksichtigt wurden. Wie zwischenzeitlich angestellte Untersuchungen ergeben haben, befinden sich im Kotfilterrückstand im Durchschnitt 8, 6 % der Gesamt-N-Menge aus dem Hydrolysat, gegenüber 1-2 % bei der Tierkörperhydrolyse.

Werden im Versuch I bei den einzelnen Tieren zu den gefundenen N-Ausscheidungen jeweils 8, 6 % hinzugefügt, so beträgt die aufgetretene Diskrepanz nicht mehr 19, 7 %, sondern im Höchstfalle 2, 63 % im negativen, und 5, 36 % im positiven Bereich. Es hat sich somit als unbedingt notwendig erwiesen, die bei Hydrolysen entstehenden Filterrückstände genauestens zu beachten, was von uns in den weiteren Versuchen auch geschehen ist.

Als Ergebnis des Versuchs II wurde ein "N-Verlust" von im Durchschnitt 8, 88 % erhalten, und im III. Versuch lag die durch Körper-N-Analyse ermittelte N-Retention um 6, 03 % über der durch die Bilanz gegebenen. Diese zunächst recht bedeutsam erscheinenden Diskrepanzen sind in ihrem absoluten Wert jedoch relativ geringfügig; so entsprechen die 8, 88 % N-Differenz nur 137, 3 mg N, die 6, 03 % lediglich 70, 42 mg N.

Beim IV. Versuch waren unserer Ansicht nach sämtliche Fehlermöglichkeiten ausgeschlossen. Dieser Versuch sollte deshalb den drei ersten gegenüber als Hauptversuch angesehen werden. Auf Grund der mit Hilfe der vorangegangenen

Versuche ausgeschalteten Fehlerquellen durfte somit ein der Wirklichkeit entsprechendes Bild erwartet werden. Das Ergebnis war folgendermaßen: Die durch Körper-N-Analyse gefundene N-Retention lag um nur 1,99 % über der nach der Bilanzmethode ermittelten. Damit war praktisch der als Differenz durch N-Einnahmen - N-Ausgaben berechnete Stickstoff als N-Ansatz im Tier analytisch wiedergefunden. Innerhalb solch geringer Abweichungen sind unter Berücksichtigung der im Versuch IV beschriebenen Versuchsbedingungen zukünftig beide Methoden zur Bestimmung der N-Retention als gleichwertig anzusehen.

Es muß aber bei der Bestimmung der N-Bilanz beachtet werden, daß die gasförmig entweichenden N-Verbindungen (in erster Linie NH_3) erfaßt werden. Unabhängig von dem noch zu prüfenden Problem, ob das in unseren Versuchen festgestellte NH_3 in der Käfigluft aus den Ausscheidungen stammt oder direkt vom Tier abgegeben wurde, erscheint es notwendig, auf die Konsequenzen hinzuweisen, die sich ergeben, wenn nach den bisherigen Methoden (ohne Erfassung des NH_3 in der Käfigluft) eine N-Bilanz oder auch eine C-Bilanz aufgestellt wurden.

Wie im Hauptversuch (Versuch IV) gezeigt wurde, entspricht diejenige N-Menge, die in der Käfigluft als NH_3 gefunden wurde 3,46 % der Gesamtausscheidung an Futter-N. Wird diese Menge bei der N-Bilanz nicht berücksichtigt, so erscheint die abgegebene N-Menge kleiner als es den Tatsachen entspricht; damit errechnet sich aber eine N-Retention, die größer als die tatsächliche ist.

Umgekehrt heißt das, daß die N-Bilanzen (an wachsenden Tieren), die nach den bisher üblichen Methoden aufgestellt wurden (wenn man entsprechend unseren Untersuchungen annimmt, daß dabei eine gewisse Menge NH_3 gasförmig entwichen ist) tatsächlich weniger stark positiv waren als sich aus den N-Einnahmen abzüglich der N-Ausgaben errechnen ließ. Bei ausgewachsenen Tieren, die ohne Berücksichtigung der an die Luft abgegebenen NH_3-Mengen eine ausgeglichene N-Bilanz zu haben schienen, war dementsprechend die N-Abgabe größer als die N-Einnahme, die N-Bilanz also negativ.

Die Verwendung von N-Bilanzen als Faktor bei anderen biologischen Versuchen (ohne Berücksichtigung des gasförmig abgegebenen Futter-N, z.B. als NH_3) bedingt zwangsläufig eine Unsicherheit so gewonnener Ergebnisse. Dies ist z.B. bei der Aufstellung von Kohlenstoff-Bilanzen zur Berechnung des Fettansatzes aus dem Futter der Fall. Hier wird die für den Eiweißansatz verwendete C-Menge aus der N-Retention (N-Einnahmen minus N-Ausgaben in Kot und Harn) berechnet, und dieser Wert vom gesamten C-Ansatz abgezogen

(oder bei negativer N-Bilanz wird die der abgegebenen Proteinmenge entsprechende C-Menge der Gesamt-C-Bilanz zugezählt).

Wenn der tatsächliche N-Ansatz bei derartigen Versuchen kleiner ist als es sich aus der Bilanz errechnet, so ist die von dem gesamten C-Ansatz zu subtrahierende C-Menge ebenfalls kleiner, der Fettansatz also tatsächlich größer als er ohne Berücksichtigung der gasförmig, z. B. als NH_3 entwichenen Futter-N-Mengen berechnet werden konnte.

Es erscheint nach den vorliegenden Befunden notwendig, die Bilanzen dahingehend zu überprüfen, ob evtl. durch gasförmig, z. B. als NH_3, entwichenen, aus dem Futter stammenden Stickstoff eine Korrektur der Ergebnisse notwendig wird.

E.

ZUSAMMENFASSUNG

Nach einleitender Betrachtung der Bedeutung von Futtermittelrohproteinen für die Ernährung und einiger Methoden zur biologischen Wertbeurteilung von N-haltigen Substanzen in Futtermitteln wurde ein Teil derjenigen Autoren angeführt, die sich in Tierexperimenten mit dem Problem der aufgetretenen Diskrepanzen zwischen einer durch die Aufstellung einer N-Bilanz gegebenen und einer durch Körper-N-Analyse ermittelten N-Retention befaßt haben.

Im experimentellen Teil werden vier 14tägige Versuche mit jungen, wachsenden Albinoratten beschrieben, bei denen gleichzeitig die Ermittlung der N-Retention durch die Körper-N-Analyse erfolgte. Die Ergebnisse der Versuche zeigen an, daß es neben der bisher üblichen Art der Durchführung von Stickstoff-Bilanzversuchen notwendig ist, auch diejenigen N-Mengen zu berücksichtigen, die vom Tierkörper oder den Exkrementen an die umgebende Luft abgegeben werden.

Bei der Verarbeitung von Harn, Kot und Ratten wird der Weg einer 24stündigen Hydrolyse empfohlen, da diese Methode leicht und schnell durchführbar ist, und alle N-Verluste vermieden werden.

Die angestellten Versuche werden ihren Ergebnissen nach in drei Vorversuchen und einen Hauptversuch untergliedert, wobei das nach Ausschaltung aller denkbaren Fehler in der Methodik erhaltene Ergebnis des Hauptversuchs als das richtige angesehen wird.

Im folgenden Teil werden unsere Ergebnisse und Methoden mit denen anderer Autoren verglichen. Ferner wird festgestellt, daß die von fast allen Autoren beschriebenen Unterschiede zwischen der durch N-Bilanz ermittelten und der nach Körper-N-Analyse gefundenen N-Retention von uns in dem angegebenen Maße nicht bestätigt werden können.

Aus vorliegender Arbeit resultiert vielmehr, daß die durch die Bilanz errechnete N-Retentionsmenge, bei einer Fehlergrenze von ca. 2 % als N-Ansatzmenge im Tierkörper analytisch wiedergefunden wird, die N-Retentionsberechnung nach der Bilanzmethode also der durch Körper-N-Analyse gleichwertig gegenübersteht, wenn alle im Versuch IV beschriebenen Versuchsbedingungen berücksichtigt werden.

Die Nutzanwendung der Ergebnisse für die praktische Durchführung von N-Bilanzversuchen und die Berechnung des Fettansatzes mit Hilfe von Kohlenstoff- und Stickstoff-Bilanzen wird erörtert.

F.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Thomas, K.: Arch. f. Physiol. 25, 219 (1909)

2. Mitchell, H. H.: J. of biol. Chem. 58, 872 (1923)

3. Bender, A. E.; Miller, D. S.:
Biochem. J. 53, vii (1953)

4. Osborne, T. B.; Mendel, L. B.; Ferry, A.:
J. of biol. Chem. 37, 223 (1919)

5. Pfeiffer u. Mitarbeiter:
Zit. nach Kinzel, Diss. U. Kiel 1955

6. Weniger: Zit. nach Kinzel, H., Diss. U. Kiel 1955

7. Lombroso und Di Frisko:
Arch. intern. Physiol. 32, 22, 40, (1930)

8. Dohna-Schlobitten:
Arch. f. Tierern. u. Tierz. 6, 415 (1931)

9. Rauf, Fr. B.: Diss. U. Kiel, 1954: "N-Retentionsversuche an Hühnern im Ablauf von 130 Tagen, bei zehntägiger Unterteilung."

10. Schoel, E.: Diss. U. Kiel, 1955: "Stickstoffretentionen an New-Hampshire-Hähnen vom 1.-80. Lebenstag mit und ohne Wirkstoffzufütterung und ihre physiologische Bedeutung nach Ermittlung des N-Gehaltes der Versuchstiere."

11. Kinzel, H.: Diss. U. Kiel, 1955: "Läßt sich die N-, Ca-, und P-Bilanz bei Hühnern und Enten durch die Tieranalyse bestätigen?" (160- und 60tägige Versuche an Küken.)

12. Rössner, W.: Diss. U. München, 1955: "Untersuchung über Wertbeurteilungsmöglichkeiten von Eiweißen für die Ernährung durch Tierfütterungsversuche."

13. Fölster, H.: Diss.U. Kiel, 1956: "Langfristige N-, Ca-, und P-Bilanzversuche und Analysen von sechs Hennen bei verschiedener Fütterung."

14. Drepper, K.: Naturwissenschaften 43, 203 (1956)

15. Nehring, K.: Biochem. Zeitschr. 328, 549 (1957)

16. Wolpert, E.: Diss.U. München, 1958: "Nahrungswertermittlung von Futtermittelrohproteinen."

17. Hansel, G.: Diss.U. München, bisher unveröffentlicht.

18. Becker, M. und Harnisch, S.: Arch. f. Tierernährung, Bd 8, Heft 4

19. Landis, J.: Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere (1957).

An dieser Stelle darf ich mir erlauben,
Herrn Professor Dr. Dr. Johannes Brüggemann
für die Überlassung des Themas, sowie für die vorbildlichen Arbeitsbedingungen, die ich in seinem Institut antraf, meinen tiefempfundenen Dank abzustatten.

Ferner möchte ich Herrn Privat-Dozent Dr. Dr. Kraft Drepper, der als wissenschaftlicher Assistent des Instituts durch seinen steten Rat und seine Fürsorge jederzeit großen Anteil an vorliegender Arbeit nahm, recht herzlichen Dank sagen.

Lebenslauf

Am 25. Februar 1934 wurde ich, Jürgen Franz Josef Heppa, als Sohn des Stabsintendanten Josef Heppa und seiner Ehefrau Hildegard, geborener Neumann, in Stettin geboren.

Nach meiner Flucht aus Woldenberg/Pommern im Januar 1945 absolvierte ich den Rest meiner Volksschulzeit in Grafenwöhr in der Oberpfalz.

Im September 1948 trat ich in die Lehrerbildungsanstalt mit Oberschule in Kurzform in Amberg/Oberpfalz ein. Ich verließ diese Lehranstalt 1954 nach Erhalt des Reifezeugnisses. Seit dem Wintersemester 1954/55 studiere ich an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München und befinde mich zur Zeit im 9. Fachsemester.

Mit vorliegender Arbeit war ich in der Zeit vom August 1957 bis November 1958 beschäftigt.